昆虫学报 Acta Entomologica Sinica, October 2002, 45 (5): 593 - 596 ISSN 0454-6296

鞭角华扁叶蜂蜕皮甾类激素滴度的变化

王满囷，李周直
(南京林业大学森林资源与环境学院，南京 210037)

摘要：用放射免疫分析法测定了鞭角华扁叶蜂 *Chinolyda flagellicornis* 末龄幼虫及滞育预蛹血淋巴中蜕皮甾类激素滴度。结果表明，末龄幼虫血淋巴中蜕皮甾类激素滴度在第 2 和 4 天各有一高峰；滞育预蛹血淋巴中保持一定滴度的蜕皮甾类激素，并随发育时期的不同有所波动；预蛹化蛹前一周血淋巴中蜕皮甾类激素滴度存在两个与变态相对应的峰值。表明鞭角华扁叶蜂的滞育与蜕皮甾类激素相关。

关键词：鞭角华扁叶蜂；蜕皮甾类激素；放射免疫法
中图分类号：Q965；S763.43 **文献标识码**：A **文章编号**：0454-6296 (2002) 05-0593-04

Changes in ecdysteroid titres of *Chinolyda flagellicornis*

WANG Man-Qun, LI Zhou-Zhi (College of Forestry Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: The haemolymph ecdysteroid titres of the last instar and diapausing prepupa of the sawfly *Chinolyda flagellicornis* were determined by radioimmunoassy. The results showed that two peaks were present on the second and the fourth day of the last instar respectively. The haemolymph ecdysteroid titres of diapausing prepupa remained at a relatively high level (about 20 ng/mL). From about one week before pupation (the last instar) haemolymph ecdysteroid titres went up forming two separated peaks. It seems that the diapause of *Chinolyda flagellicornis* is regulated by ecdysteroids.

Key words: *Chinolyda flagellicornis*; ecdysteroid; radioimmunoassay

害虫的生态适应是其发生与成灾的根本原因，从本质上来看，这一生态适应都是通过神经内分泌系统的调节来实现的，许多越夏越冬的昆虫具有滞育的行为。已有证据表明，脑神经分泌细胞失活，停止释放脑激素而引起蜕皮激素的缺乏导致不能蜕皮，是某些幼虫和蛹产生滞育现象的原因。如不释放促前胸腺激素（PTTH）和由此而引起的血淋巴中蜕皮甾类激素的低滴度，可能在欧洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis* 滞育的诱发和维持中起主要作用 (Gelman and Woods, 1983)；但对于不同种类昆虫其滞育的激素调控机制不同，也有证据表明某些滞育幼虫的前胸腺仍保持活性，如西南玉米螟 *Diatraea grandiosella*、二化螟 *Chilo suppressalis* 以及亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* 的滞育幼虫中蜕皮甾类激素仍保持较高滴度（Chippendale, 1977; Yin and Chippendale, 1973; Yagi and Fukaya, 1974; Bean and Beck, 1980; 郭素堂等, 1992)。而对于一化性昆虫特别是以预蛹滞育的昆虫种类如鞭角华扁叶蜂（崔相富等, 1992)，蜕皮甾类激素究竟起到何种作用，则未见报道。

放射免疫分析法（radioimmunoassay, RIA）是放射性同位素示踪技术与免疫反应原理相结合的一种体外的超微量分析方法，其特点是灵敏度高、特异性强、取样量少、操作简便，不会引起生物体的辐射损伤。我们利用此项技术对鞭角华扁叶蜂 *Chinolyda flagellicornis* 蜕皮甾类激素的滴度进行了研究。

1 材料与方法

1.1 试验昆虫

鞭角华扁叶蜂幼虫在自然条件下，以水培柏木

基金项目：国家自然科学基金资助项目 (39970618)
第一作者简介：王满囷，男，1972 年 9 月生，博士，讲师，从事昆虫生理生态学研究。现工作单位：华中农业大学植物科学技术学院植物保护系。E-mail: mqwang@cnuninet.com
收稿日期 Received: 2001-04-12；接受日期 Accepted: 2002-01-03

当年生枝叶饲养。龄期以幼虫蜕皮次数来记数，以 5 龄晚期幼虫头壳从前胸背板上脱落起计为 6 龄 0 小时。

1.2 血淋巴的收集

6 龄幼虫 0 小时开始，每隔 24 h 收集一次血淋巴，预蛹期以入土为起点，每隔一个月收集一次血淋巴。在化蛹前的一周内开始每天收集血淋巴。

1.3 蜕皮激素的抽提

用微量取样器吸取 50 μL 血淋巴直接加入 300 μL甲醇中，振荡混匀后高速离心 5 min，吸取上清液，沉淀物再用 300 μL 甲醇重复抽提离心一次，合并上清液，低温保存，用于 RIA 测定。

1.4 蜕皮甾类激素的 RIA 测定

蜕皮甾类激素的 RIA 测定参考曹梅讯（1986）建立的方法，测定结果以 20-羟基蜕皮酮当量表示（曹梅讯，1986）。所用测定仪为 FT-613 自动计算 ^{125}I 放免测量仪。

2 结果与分析

2.1 末龄幼虫血淋巴中蜕皮甾类激素的滴度

末龄幼虫血淋巴中蜕皮甾类激素的变化如图 1。从图 1 中可以看出，末龄幼虫血淋巴中蜕皮甾类激素滴度在 3 天以前基本处于平稳状态，为 17 ng/mL，之后开始升高，在发育至第 2 天时，出现一个峰值，达到 28 ng/mL，这段时间幼虫取食体重增长。之后稍有下降便又迅速升高达到 56 ng/mL，此时末龄幼虫已基本停止取食，并于第 2 天开始陆续下树，寻找滞育的场所，准备越夏越冬。

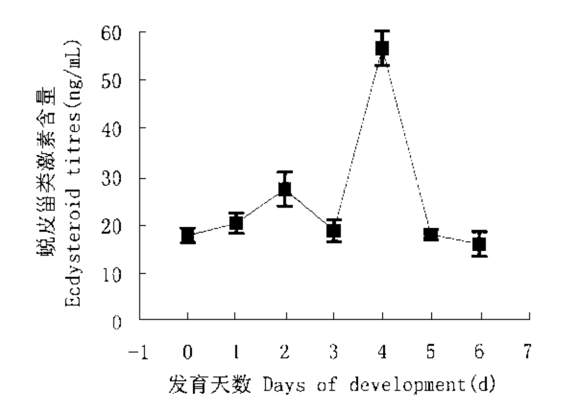


图 1 鞭角华扁叶蜂末龄幼虫期血淋巴中蜕皮甾类激素滴度变化

Fig. 1 Ecdysteroid titre of haemolymph in last instar larvae of *Chinolyda flagellicornis*

2.2 预蛹血淋巴中蜕皮甾类激素的滴度

鞭角华扁叶蜂预蛹血淋巴中蜕皮甾类激素的滴度变化如图 2。从图中可以看出，在鞭角华扁叶蜂整个滞育期间，血淋巴中蜕皮甾类激素滴度的变化不大，与入土前末龄幼虫相比，整个滞育期间血淋巴中蜕皮甾类激素滴度有所升高，基本都维持在 20 ng/mL 以上。这表明在滞育期间，鞭角华扁叶蜂的脑神经分泌细胞仍在分泌促前胸腺素，促使前胸腺分泌蜕皮甾类激素。从图 2 中也可以看出，预蛹入土后的 6 个月左右，蜕皮甾类激素滴度有一个较大的升高，雌雄预蛹血淋巴中蜕皮甾类激素滴度分别可达 23.73 ng/mL 和 26.55 ng/mL。

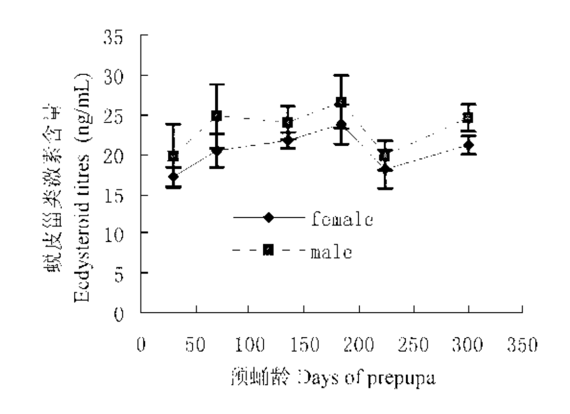


图 2 鞭角华扁叶蜂滞育预蛹血淋巴中蜕皮甾类激素滴度变化

Fig. 2 Ecdysteroid titres of haemolymph in the diapause prepupa of *Chinolyda flagellicornis*

2.3 化蛹前一周预蛹血淋巴中蜕皮甾类激素的滴度

鞭角华扁叶蜂化蛹前一周血淋巴中蜕皮甾类激素的滴度变化如图 3。由图 3 可以看出，鞭角华扁叶蜂预蛹在化蛹前血淋巴中蜕皮甾类激素滴度有一个大的变化过程，其变化趋势类似于幼虫在一个龄期内的变化过程，在蜕皮前的一周有 2 个峰值。如在化蛹前 5 天蜕皮甾类激素滴度达到第一个峰值，雌雄预蛹分别达 49 ng/mL 和 55 ng/mL。这相当于幼虫每次蜕皮期间的初峰，引起皮层的溶离。之后开始下降，到化蛹前第 3 天开始又迅速升高，并于化蛹前第 2 天达最高峰，雌雄预蛹分别为 359 ng/mL 和 387 ng/mL。此峰引起鞭角华扁叶蜂预蛹的蜕皮化蛹。

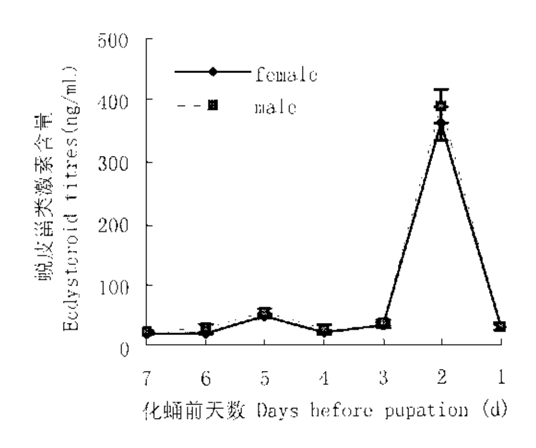


图 3 鞭角华扁叶蜂化蛹前一周血淋巴中蜕皮甾类激素滴度变化

Fig. 3 The ecdysteroid titre of haemolymph in the prepupa of *Chinolyda flagellicornis*

3 讨论

对于昆虫血淋巴中蜕皮甾类激素滴度的研究已有很多报道（Smith and Fukaya，1985），特别是对于末龄幼虫期血淋巴中蜕皮甾类激素滴度的研究表明，多数昆虫在末龄期无论雌雄血淋巴中都有两个蜕皮甾类激素滴度峰出现。末龄期先出现一个小峰，为非蜕皮峰，可能与诱发幼虫的变态有关，末龄后期即化蛹前出现一个大峰，为蜕皮峰，与幼虫的预蛹发育和蜕皮有关。对鞭角华扁叶蜂的测定结果表明，其末龄幼虫血淋巴中蜕皮甾类激素滴度与其它昆虫的一般模式相一致，即整个末龄期有两个分离的蜕皮甾类激素滴度峰存在，但并不能促使鞭角华扁叶蜂末龄幼虫蜕皮化蛹，这是由于蜕皮甾类激素的效应是启动昆虫蜕皮，但它本身并不能决定昆虫发育的方向，而是同保幼激素（JH）联合协调进行的。对 JH 测定的结果表明在鞭角华扁叶蜂末龄幼虫期血淋巴中 JH 滴度虽呈迅速降低的趋势，但仍保持较高的滴度，使鞭角华扁叶蜂仍保持幼虫的形态而不发生蜕皮现象（王满困，2000）。蜕皮甾类激素此时的效应可能是使末龄幼虫的行为发生改变，参与诱导鞭角华扁叶蜂滞育。

对鞭角华扁叶蜂滞育期间预蛹血淋巴中蜕皮甾类激素滴度测试的结果表明，在滞育期间，鞭角华扁叶蜂预蛹血淋巴中始终保持一定滴度的蜕皮甾类激素，并在不同的时期有所波动。这说明，在整个滞育期间，鞭角华扁叶蜂预蛹的脑神经分泌细胞仍进行着较为活跃的分泌活动，以调节机体发生一系列的生理生化变化，来适应外界环境的变化。这种变化与对鞭角华扁叶蜂的内分泌系统解剖观察的结果也相一致，在滞育期间，鞭角华扁叶蜂预蛹的各分泌器官未见任何萎缩的迹象（王满困和李周直，2000）。

对滞育预蛹化蛹前一周血淋巴中蜕皮甾类激素滴度测定的结果表明，同昆虫蜕皮的一般模式相一致，在化蛹前存在两个滴度峰值，初峰引起皮层溶离，第二峰引起蜕皮。此时蜕皮甾类激素的效应是促使鞭角华扁叶蜂预蛹蜕皮化蛹。对雌雄两性预蛹血淋巴中蜕皮甾类激素测定的结果表明，雄性血淋巴中蜕皮甾类激素的滴度高于雌虫，但在预蛹的整个发育时期，两者的变化趋势相一致，并不存在着显著差异。

已明了蜕皮甾类激素对于诱导、维持以及解除鞭角华扁叶蜂的滞育起着很重要的作用，但对于蜕皮甾类激素是否在扁叶蜂预蛹滞育的诱导、维持以及解除的过程中起决定性作用的问题，还需要通过外部注射蜕皮甾类激素类似物、虫体结扎及器官移植等手段加以研究。

参 考 文 献 （References）

Bean D W，Beck S D，1980. The role of juvenile hormone in the larval diapause of the European corn borer *Ostrinia nubilalis*. *J. Insect Physiol.*，26：579－584.

Cao M X，1986. Method of 20-hydroxide ecdysteroid radiommunoassay. *Entomol. Knowledge*，23（2）：87－90.［曹梅讯，1986. 20-羟基蜕皮酮的放射免疫分析法. 昆虫知识，32（2）：87－90］

Chippendale G M，1977. Hormonal regulation of larval diapause. *Ann. Rev. Entomol.*，22：121－138.

Cui X F，Tao H Q，Wang Y R，Zheng Y X，1992. Studies on the bionomics and methods of control of *Chinolyda flagellicornis*（F. Smith）. *Forest Research*，5（3）：321－327.［崔相富，陶华齐，王于荣，郑永祥，1992. 鞭角华扁叶蜂生物学特性及防治方法的研究. 林业科学研究，5（3）：321－327］

Gelman D B，Woods C W，1983. Haemolymph ecdysteroid titres of diapause- and nondiapause-bound fifth instars and puapae of the European corn borer，*Ostrinia nubilalis*. *Comp. Biochem. Physiol.*，76A：367－375.

Guo S T，Liu R L，Jiang R J，Cao M X，1992. Changes of PTTH and ecdysteroid titers in last instar larvae of the Asian corn borer *Ostrinia furnacalis*. *Acta Entomol. Sin.*，35（1）：15－21.［郭素堂，刘瑞林，蒋容静，曹梅讯，1992. 亚洲玉米螟末龄幼虫促前胸腺激素与蜕皮甾类激素滴度的变化. 昆虫学报，35（1）：15－21］

Smith S，Fukaya M，1985. Regulation of ecdysteroid titer：synthesis. In：Kerkut G A，Gilbert L I eds. Comprehensive Insect Physiology，Biochemistry and Pharmacology. Oxford：Pergaman Press. Vol. 7：295－

342.

Wang M Q，2000. Study on diapause mechanism of *Chinolyda flagellicornis* (F. Smith). Nanjing: Dissertation for Ph. D of Nanjing Forestry University. [王满囷，2000. 鞭角华扁叶蜂滞育机理的研究. 南京：南京林业大学博士学位论文]

Wang M Q，Li Z Z，2000. Anatomy of neurosecretory system of prepupa *Chinolyda flagellicornis* (F. Smith). *Journal of Nanjing Forestry University*，24 (2)：21－24. [王满囷，李周直，2000. 鞭角华扁叶蜂预蛹神经内分泌系统的解剖. 南京林业大学学报，24 (2)：21－24]

Yagi S，Fukaya M，1974. Juvenile hormone as a key factor regulating larval diapause of the rice sterm borer *Chilo suppressalis*. *Appl. Entomol. Zool.*，9：247－255.

Yin C M，Chippendale G M，1973. Juvenile hormone regulation larval diapause of the southwestern corn borer *Diatraea grandiosella*. *J. Insect Physiol.*，19：2 403－2 420.